



УДК 615.012.1:547.789.1

DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.1.11986>

СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ДЕЯКИХ ПІРАЗОЛЗАМІЩЕНИХ 7H-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[3,4-B][1,3,4]ТІАДІАЗИНІВ

І. І. Мирко¹, Т. І. Чабан¹, В. В. Огурцов¹, В. С. Матійчук²

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького¹

Львівський національний університет імені Івана Франка²

chabantaras@ukr.net

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
01.02.2021

Після доопрацювання / Revised:
10.02.2021

Прийнято до друку / Accepted:
12.02.20219

Ключові слова:

органічний синтез;
ЯМР-спектроскопія;
1-арил-4-{3-арил(гетарил)-
7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b]
[1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-
1H-піразол-3-карбоксилати;
антимікробна активність.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Здійснити синтез деяких нових піразолзаміщених 7H-[1,2,4] триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів та провести дослідження антимікробних властивостей синтезованих сполук.

Матеріали і методи. Органічний синтез, ЯМР-спектроскопія, елементний аналіз, фармакологічний скринінг.

Результати й обговорення. У результаті взаємодії етил (2Z)-хлоро(фенілгідразоно)ацетатів з ацетилацетоном отримано етил 4-ацетил-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилати. Зазначені сполуки піддали бромованню, що дало можливість одержати цільові бромкетони. Синтезовані на даній стадії етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати введено у взаємодію з 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіонами з подальшим формуванням 1,3,4-тіадіазольного циклу та отриманням відповідних етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів. Структура синтезованих сполук підтверджена даними елементного аналізу та ЯМР-спектроскопією. В рамках міжнародного проекту «The Community for Antimicrobial Drug Discovery» (CO-ADD) за підтримки Wellcome Trust (Велика Британія) й університету Квінсленда (Австралія) для синтезованих сполук здійснено скринінг антимікробної активності. Як тестові мікроорганізми використовували п'ять штамів бактерій: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 та двох штамів грибків: *Candida albicans* ATCC 90028 і *Cryptococcus neoformans* ATCC 208821. Встановлено, що досліджувані сполуки виявляють різноманітну дію, від практично повної її відсутності до виразного антимікробного ефекту.

Висновки. Здійснено синтез 12 нових етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів. Зазначені речовини отримані шляхом взаємодії відповідних етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів із 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіонами. Дослідження антимікробної активності синтезованих сполук демонструють потенціал пошуку антимікробних агентів серед зазначеного класу сполук.

Вступ. Мікробні інфекції стають дедалі серйознішою та складнішою проблемою для здоров'я людини у всьому світі. Вони становлять глобальне непряме навантаження на безпеку громадського здоров'я та вплив на соціально-економічну стабільність. Проблеми спричинені інфекційними хворобами посилюються з постійною появою нових ендемічних інфекцій. Велика різноманітність біологічних форм патогенів та виникнення нових мультирезистентних патогенних штамів ускладнює боротьбу з інфекційними захворюваннями [1]. На жаль, для багатьох з них не існує ефективного лікування або вакцини. У цьому аспекті існує гостра необхідність у розробці нових протимікробних лікарських засобів.

Нітрогеномісні органічні молекули представляють надзвичайно важливий клас сполук, які широко поширені в галузі органічної, біоорганічної та медичної хімії. Понад 75 % доступних на світовому фармацевтичному ринку лікарських засобів є нітрогеномісними гетероциклічними компонентами [2]. У найближче десятиліття очікується збільшення частки фармацевтичних препаратів на основі нітрогену.

В останні роки зростає інтерес до конденсованих нітрогеномісних гетероциклічних систем, оскільки багато з них проявляють різноманітні види біологічної активності [3, 4]. 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазини є одними з перспективних представників цього класу сполук. Вони володіють досить широким спектром фармакологічної активності [5–12], що є вагомим підставою пошуку нових біологічно активних речовин серед зазначених гетероциклів.

Метою нашої роботи став синтез нових 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилатів з наступним дослідженням антимікробної активності синтезованих сполук.

Матеріали і методи. При виконанні експериментальної частини роботи використано традиційні методи органічного синтезу. Синтетичні дослідження проведено з використанням реактивів компаній «Merck» (Німеччина) та «Sigma-Aldrich» (США). Спектри ЯМР одержаних сполук знімали на приладі Varian VXR-400 (США). Дані елементного аналізу відповідають вирахуванню ($\pm 0,3$ %). Дослідження антимікробної активності синтезованих сполук здійснено в рамках міжнародного проекту «The Community for Antimicrobial Drug Discovery» (CO-ADD) за підтримки Wellcome Trust (Велика Британія) й університету Квінсленда (Австралія). Як тестові мікроорганізми використовували п'ять штамів бактерій: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 та два штами грибків: *Candida albicans* ATCC 90028 і *Cryptococcus neoformans* ATCC 208821.

Результати й обговорення. З огляду на продовження нашої дослідницької роботи з пошуку нових біологічно активних конденсованих нітрогеномісних гетероциклів [13], це дослідження зосереджено на синтезі та дослідженні антимікробної активності нових піразолзаміщених 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів. Вихідними речовинами в синтетичній частині даного дослідження стали етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилати (**3**), які було одержано за відомою методикою [14] в результаті взаємодії етил (2*Z*)-хлоро(фенілгідрозо)ацетатів (**1a-d**) з ацетилацетоном, із подальшим бромуванням отриманих на даній стадії сполук (**2a-d**), що дало можливість одержати цільові бромкетони (**3a-d**). Бромовання сполук **2** відбувається у середовищі ацетатної кислоти (схема 1):

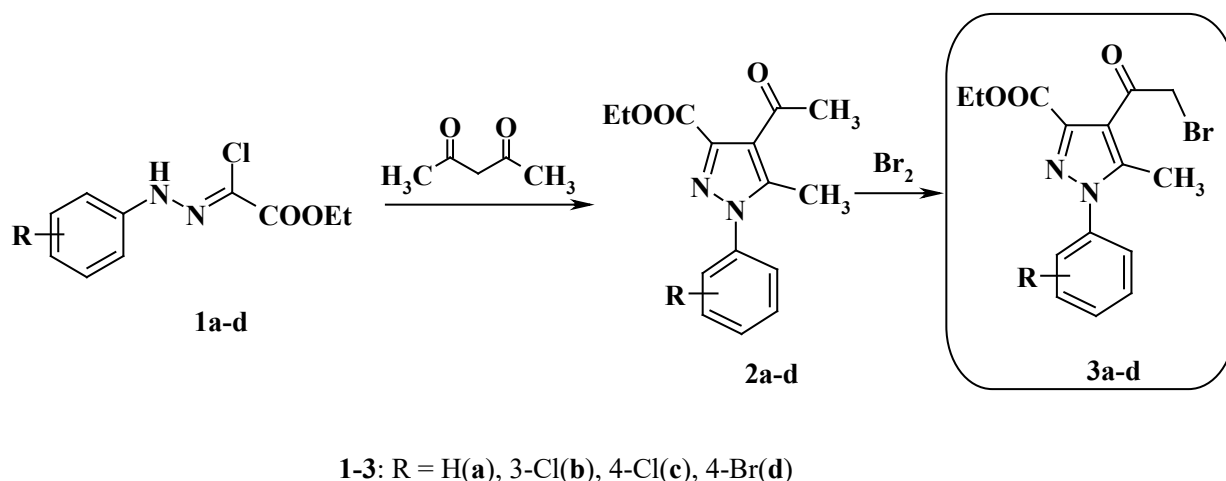


Схема 1. Синтез етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилатів.

Ще одним цікавим класом органічних сполук, який ми використали для синтезу цільових речовин, стали 4-аміно-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіони (4-6). Зазначені похідні є перспективними реагентами в побудові біологічно активних гетероциклів [5]. При взаємодії цих бінклеофілів з α-галогенкетонами утворюються похідні [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину. Враховуюче зазначене, наступний етап нашої роботи полягав у проведенні взаємодії етил 1-арил-4-

(бромацетил)-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилатів (3) з 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіонами (4-6). Наші дослідження показали, що зазначене перетворення відбувається у середовищі етанолу із формуванням 1,3,4-тіадіазольного циклу. Продуктами такої циклізації стали цільові етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилати (7-9) (схема 2):

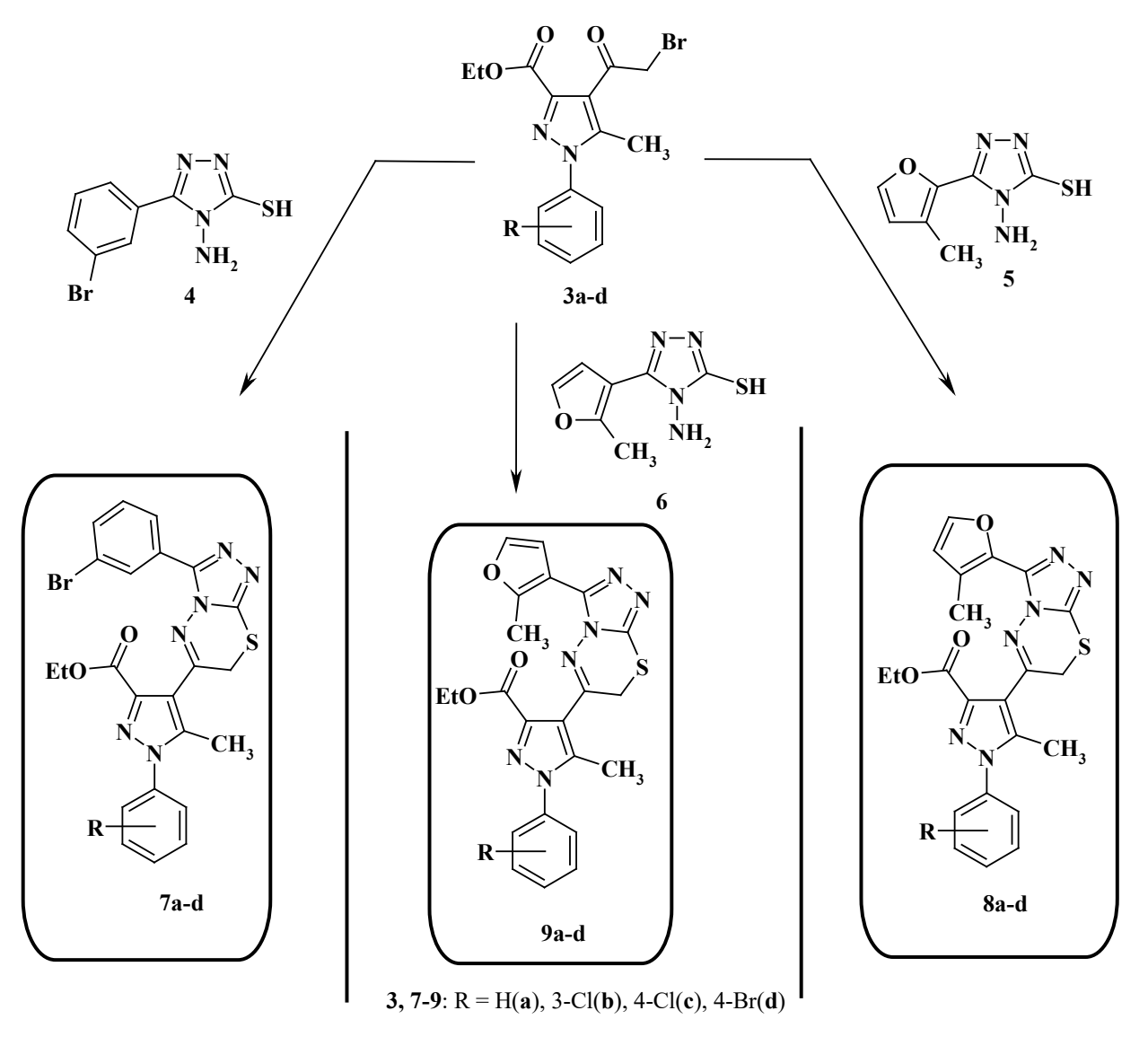


Схема 2. Синтез етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-1*H*-піразоло-3-карбоксилатів.

Для підтвердження структури та індивідуальності синтезованих речовин були використані методи кількісного елементного аналізу та спектроскопії ЯМР. Спектральні характеристики синтезованих сполук наведено в експериментальній частині.

З метою пошуку нових біологічно активних сполук як потенційних лікарських засобів, синтезовані етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-1*H*-піразол-3-карбоксилати стали об'єктами дослідження їхньої

антимікробної активності. Зазначене дослідження здійснено в рамках міжнародного проекту «The Community for Antimicrobial Drug Discovery» (CO-ADD) за підтримки Wellcome Trust (Велика Британія) й університету Квінсленда (Австралія) [15]. Як тестові мікроорганізми використовували п'ять штамів бактерій: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 та два штами грибків: *Candida albicans* ATCC 90028 і *Cryptococcus neoformans* ATCC 208821.

Антимікробну активність вивчали, аналізуючи частку інгібування росту клітин (GI) [15]. Результати досліджень наведено в таблицях 1 та 2. Встановлено, що отримані сполуки виявляють різнопланову дію на мікроорганізми. Виражений антимікробний ефект спостерігали у сполук **8b** (GI 88.5 %) і **8c** (GI 93.6 %) щодо штаму *S. aureus* ATCC 43300. Особливістю будови цих сполук є наявність атома хлору в арильному залишку в положенні 1 піразольного циклу. Сполуки **9b** та **9c** проявляли дещо нижчі антимікробні властивості до штаму *S. aureus* ATCC 43300, однак

результати зазначеної активності дають можливість зробити висновок про перспективність пошуку антимікробних агентів серед вказаного класу сполук. Усі інші досліджувані речовини проявили помірну або низьку активність щодо використовуваних штамів бактерій чи грибків.

Сполуки **8b** і **8c** було відібрано для другого етапу досліджень, який полягав у встановленні мінімальної інгібуючої концентрації MIC та визначенні цитотоксичності (CC₅₀ та HC₁₀) щодо ембріональних клітин нирок людини (Human embryonic kidney cells) та еритроцитів людини (Human erythrocytes) [15]. Зазначений експеримент підтвердив антибактеріальну активність зазначених сполук відносно штаму *S. aureus* ATCC 43300. Результати досліджень наведено у таблиці 3.

Експериментальна частина.

Синтетична частина. Загальна методика синтезу відповідних 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]міадіазин-6-іл}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів (7-9). До розчину бромкетону **3** (1 ммоль) в 10 мл етанолу додавали 4-аміно-5-(3-бромфеніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіол

Таблиця 1

Антибактеріальна активність синтезованих сполук GI %

Сполука	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606
7a	33.3	6.9	8.4	-10.5	9.4
7b	21.8	-3.8	-16.8	7.9	8.6
7c	23.1	14.5	-10.1	6.8	-8.2
7d	33.1	23.4	-9.4	4.5	-7.7
8a	18.5	15.7	-7.5	-5.7	9.8
8b	88.5	9.8	10.1	-8.5	-7.7
8c	93.6	14.5	-11.7	5.4	13.2
8d	31.4	12.5	26.2	5.9	-0.7
9a	21.7	-0.9	15.4	9.7	6.6
9b	55.6	12.4	-11.9	7.7	15.3
9c	65.1	0.9	7.8	9.5	11.7
9d	24.5	7.8	9.9	13.5	15.8

Таблиця 2

Протигрибкова активність синтезованих сполук GI %

Сполука	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. neoformans</i> ATCC 208821	Сполука	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. neoformans</i> ATCC 208821
7a	22.3	18.7	8c	55.6	31.8
7b	42.5	18.4	8d	-1.5	-8.7
7c	31.5	17.4	9a	21.7	14.9
7d	12.5	9.5	9b	45.5	17.3
8a	21.7	12.2	9c	65.4	35.6
8b	41.4	32.4	9d	21.8	12.5

Таблиця 3

Антибактеріальна активність сполук **8b** і **8c** відносно *S. aureus* ATCC 43300 та цитотоксичність щодо ембріональних клітин нирок та еритроцитів людини

Сполука	MIC мкг/мл	CC ₅₀ мкг/мл	HC ₁₀ мкг/мл
8b	32	>32	>32
8c	16	>32	>32
Цефтріаксон	32	Не тестувалось	Не тестувалось

(4), 4-аміно-5-(3-метилфуран-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіол (**5**) чи 4-аміно-5-(2-метилфуран-3-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіол (**6**) (1 ммоль). Суміш кип'ятили впродовж 4 годин. Після охолодження додавали 20 мл води та 2 % розчин амоніаку до pH ~ 8. Утворений осад відфільтрували і перекристалізували з етанолу.

Етил 4-{3-(3-бромовеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (7a). Вихід 78 %. T_{нп} 206 С. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃), δ: 1.41 (т, J 7.0, 3H, CH₂CH₃), 2.41 (с, 3H, CH₃), 3.98 (с, 2H, CH₂S), 4.45 (к, J 7.0, 2H, CH₂CH₃), 7.33 (т, J 7.9, 1H, Ar), 7.43–7.60 (м, 6H, Ar), 8.02 (д, J 7.9, 1H, Ar), 8.24 (с, 1H, Ar). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃), δ: 12.2, 14.3, 27.5, 61.9, 118.0, 122.4, 125.8 (2C), 126.7, 127.9, 129.5 (2C), 129.6, 130.1, 130.7, 133.1, 138.1, 141.6, 142.1, 143.4, 151.1, 151.4, 162.0. Знайдено, %: C 52.93; H 3.57; N 16.18. C₂₃H₁₉BrN₆O₂S. Обчислено, %: C 52.78; H 3.66; N 16.06.

Етил 4-{3-(3-бромовеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (7b). Вихід 85 %. T_{нп} 196 С. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.43 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.45 (с, 3H, CH₃), 4.00 (с, 2H, CH₂S), 4.47 (к, J 7.1, 2H, CH₂O), 7.30–7.63 (м, 6H, Ar), 8.03 (д, J 7.0, 1H, Ar), 8.25 (с, 1H, Ar). Знайдено, %: C 49.39; H 3.40; N 14.93. C₂₃H₁₈BrClN₆O₂S. Обчислено, %: C 49.52; H 3.25; N 15.07.

Етил 4-{3-(3-бромовеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-(4-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (7c). Вихід 71 %. T_{нп} 203 С. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.43 (т, J 7.2, 3H, CH₃CH₂), 2.42 (с, 3H, CH₃), 3.98 (с, 2H, CH₂S), 4.47 (к, J 7.2, 2H, CH₂CH₃), 7.34 (т, J 7.9, 1H, Ar), 7.39–7.63 (м, 5H, Ar), 8.03 (д, J 7.4, 1H, Ar), 8.24 (с, 1H, Ar). Спектр ЯМР ¹³C (50 МГц, CDCl₃), δ: 12.2, 14.4, 27.6, 62.1, 118.3, 122.4, 126.7, 127.0 (2C), 127.9, 129.7 (2C), 130.1, 130.7, 133.1, 135.6, 136.6, 141.9, 142.1, 143.3, 151.12, 151.14, 161.8. Знайдено, %: C 49.67; H 3.16; N 15.19. C₂₃H₁₈BrClN₆O₂S. Обчислено, %: C 49.52; H 3.25; N 15.07.

Етил 1-(4-бромовеніл)-4-{3-(3-бромовеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (7d). Вихід 89 %. T_{нп} 208 °С. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.43 (т, J 7.0, 3H, CH₃CH₂), 2.44 (с, 3H, CH₃), 4.03 (с, 2H, CH₂S), 4.47 (к, J 7.0, 2H, CH₂O), 7.32–7.55 (м, 3H,

Ar), 7.60 (д, J 7.3, 1H, Ar), 7.69 (д, J 7.8, 2H, Ar), 8.04 (ш. с, 1H, Ar), 8.25 (с, 1H, Ar). Знайдено, %: C 46.08; H 3.14; N 13.77. C₂₃H₁₈Br₂N₆O₂S. Обчислено, %: C 45.87; H 3.01; N 13.95.

Етил 4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилат (8a). Вихід 74 %. T_{нп} 167 С. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.39 (с, 3H, CH₃), 2.46 (с, 3H, CH₃), 3.97 (с, 2H, CH₂S), 4.46 (к, J 7.1, 2H, CH₂O), 6.42 (д, J 1.6, 1H, 4-H-фуран), 7.40–7.62 (м, 6H, Ph, 5-H-фуран). Спектр ЯМР ¹³C (50 МГц, CDCl₃), δ: 11.1, 11.8, 14.3, 27.6, 61.8, 114.6, 117.9, 124.9, 125.8 (2C), 129.4 (2C), 129.5, 136.9, 138.2, 141.5, 142.2, 142.4, 143.6, 146.2, 150.9, 161.6. Знайдено, %: C 58.71; H 4.56; N 18.56. C₂₂H₂₀N₆O₃S. Обчислено, %: C 58.92; H 4.49; N 18.74.

Етил 4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (8b). Вихід 8 %. T_{нп} 183 С. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.40 (с, 3H, CH₃), 2.48 (с, 3H, CH₃), 3.96 (с, 2H, CH₂S), 4.47 (к, J 7.1, 2H, CH₂O), 6.44 (д, J 1.6, 1H, 4-H-фуран), 7.35–7.55 (м, 5H, Ar, 5-H-фуран). Знайдено, %: C 54.48; H 3.86; N 17.62. C₂₂H₁₉ClN₆O₃S. Обчислено, %: C 54.71; H 3.97; N 17.40.

Етил 5-метил-1-(4-хлорофеніл)-4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-1H-піразол-3-карбоксилат (8c). Вихід 84 %. T_{нп} 147 С. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.2, 3H, CH₃CH₂), 2.40 (с, 3H, CH₃), 2.46 (с, 3H, CH₃), 3.96 (с, 2H, CH₂S), 4.46 (к, J 7.2, 2H, CH₂O), 6.43 (д, J 1.6, 1H, 4-H-фуран), 7.43 (д, J 9.0, 2H, Ar), 7.45 (ш. с, 1H, 5-H-фуран), 7.52 (д, J 9.0, 2H, Ar). Спектр ЯМР ¹³C (50 МГц, CDCl₃), δ: 11.1, 11.8, 14.3, 27.6, 62.0, 114.6, 118.2, 125.1, 127.0 (2C), 129.6 (2C), 135.5, 136.7, 136.9, 138.3, 142.2, 142.4, 143.6, 146.2, 150.8, 161.8. Знайдено, %: C 54.53; H 4.09; N 17.16. C₂₂H₁₉ClN₆O₃S. Обчислено, %: C 54.71; H 3.97; N 17.40.

Етил 1-(4-бромовеніл)-4-{3-(3-метилфуран-2-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (8d). Вихід 73 %. T_{нп} 178 С. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.40 (с, 3H, CH₃), 2.46 (с, 3H, CH₃), 3.96 (с, 2H, CH₂S), 4.46 (к, J 7.1, 2H, CH₂O), 6.43 (ш. с, 1H, 4-H-фуран), 7.37 (д, J 7.6, 2H, Ar), 7.46

(ш. с, 1H, 5-H-фуран), 7.68 (д, J 7.6, 2H, Ar). Знайдено, %: C 49.89; H 3.75; N 15.78. C₂₂H₁₉BrN₆O₃S. Обчислено, %: C 50.10; H 3.63; N 15.94.

Етил 4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (9a). Вихід 75 %. T_{пл} 162 °C. Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.40 (с, 3H, CH₃), 2.68 (с, 3H, CH₃), 3.95 (с, 2H, CH₂S), 4.46 (к, J 7.1, 2H, CH₂CH₃), 6.87 (д, J 1.9, 1H, фуран), 7.33 (д, J 1.9, 1H, фуран), 7.46–7.58 (м, 5H, Ph). Спектр ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃), δ: 12.0, 13.8, 14.3, 27.7, 61.8, 107.0, 109.9, 118.3, 125.7 (2C), 129.4 (2C), 129.5, 138.2, 140.6, 141.2, 141.5, 141.9, 148.3, 150.4, 154.4, 162.0. Знайдено, %: C 58.71; H 4.56; N 18.59. C₂₂H₂₀N₆O₃S. Обчислено, %: C 58.92; H 4.49; N 18.74.

Етил 4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-(3-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (9b). Вихід 83 %. T_{пл} 158 °C. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.42 (с, 3H, CH₃), 2.68 (с, 3H, CH₃), 3.95 (с, 2H, CH₂S), 4.46 (к, J 7.1, 2H, CH₂O), 6.86 (д, J 1.7, 1H, 4-H-фуран), 7.34 (д, J 1.7, 1H, 5-H-фуран), 7.36–7.55 (м, 4H, Ar). Знайдено, %: C 54.53; H 4.09; N 17.26. C₂₂H₁₉ClN₆O₃S. Обчислено, %: C 54.71; H 3.97; N 17.40.

Етил 4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1-(4-хлорофеніл)-1H-піразол-3-карбоксилат (9c). Вихід 75 %. T_{пл} 178 °C. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.40 (с, 3H, CH₃), 2.67 (с, 3H, CH₃), 3.94 (с, 2H, CH₂S), 4.45 (к, J 7.1, 2H, CH₂O), 6.85 (ш. с, 1H, 4-H-фуран), 7.27–7.60 (м, 5H, Ar, 5-H-фуран). Спектр ЯМР ¹³C (50 МГц, CDCl₃), δ: 11.8, 13.8, 14.3, 27.7, 61.9, 96.9, 107.0, 109.9, 118.6, 126.9 (2C), 129.6 (2C), 135.5, 136.7, 140.6, 141.1, 141.9, 148.3, 150.2, 154.4, 161.7. Знайдено, %: C 54.95; H 4.18; N 17.02. C₂₂H₁₉ClN₆O₃S. Обчислено, %: C 54.71; H 3.97; N 17.40.

Етил 1-(4-бромофеніл)-4-{3-(2-метилфуран-3-іл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилат (9d). Вихід 72 %. T_{пл} 196 °C. Спектр ЯМР ¹H (200 МГц, CDCl₃), δ: 1.42 (т, J 7.1, 3H, CH₃CH₂), 2.40 (с, 3H, CH₃), 2.68 (с, 3H, CH₃), 3.95 (с, 2H, CH₂S), 4.45 (к, J 6.8, 2H, CH₂O), 6.86 (ш. с, 1H, 4-H-фуран), 7.33 (ш. с, 1H, 5-H-фуран), 7.38 (д, J 8.2, 2H, Ar), 7.68 (д, J 8.2, 2H, Ar). Знайдено, %: C 50.26; H 3.78; N 15.81. C₂₂H₁₉BrN₆O₃S. Обчислено, %: C 50.10; H 3.63; N 15.94.

Антимікробна активність [15]. Інгибування росту бактерій визначали вимірюванням поглинання при 600 нм (OD600), використовуючи автоматизований

монохроматор / спектрограф Tecan M1000 Pro для зчитування планшетів. Інгибування росту *S. albicans* визначали вимірюванням поглинання при 530 нм (OD530), тоді як інгибування росту *S. neoformans* визначали, вимірюючи різницю між поглинаннями при 600 і 570 нм (OD600-570) після додавання Резазурину (0.001 % кінцевої концентрації) та інкубації при 35 °C впродовж додаткових 2 годин. Поглинання вимірювали за допомогою спектрофотометра для зчитування планшетів Biotek Synergy HTX (USA). Відсоток інгибування росту розраховували для кожної лунки мікротитраційного планшету, використовуючи негативний контроль (тільки середовище) і позитивний контроль (бактерії без інгібіторів), на тій же пластині, що і зразок для оцінки. Кожен експеримент виконували двічі.

Відсоток інгибування росту (GI,%) індивідуального зразка розраховували на основі негативного (тільки середовище) і позитивного (бактеріальне / грибокве середовище без інгібіторів) контролю.

Визначення мінімальної інгибуючої концентрації MIC та визначення цитотоксичності (CC50 та HC10) щодо ембріональних клітин нирок людини (Human embryonic kidney cells) та еритроцитів людини (Human red blood cells) проводили з використанням 8 концентрацій при розведенні 1:2. Всі речовини розчиняли в ДМСО до концентрації 10 мг/мл. Аліквоти розбавляли водою, після чого по 5 мкл розливали у порожні 384-лункові планшети, дублюючи для кожного штаму та аналізованих клітин. Як тільки клітини додавали в планшети, то отримували кінцеву концентрацію сполук 32 мкг/мл або у разі аналізу серійного розведення, концентрації сполук були від 32 до 0,25 мкг/мл. В обох випадках максимальною концентрацією ДМСО було 0,3 %.

Висновки. 1. Встановлено, що в результаті взаємодії етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилатів з 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіонами вперше отримано неописані у хімічній літературі етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксилати.

2. Будова отриманих сполук та інтерпретація проведених хімічних досліджень підтверджена даними елементного аналізу та ЯМР-спектроскопією.

3. Дослідження антимікробної активності дала можливість ідентифікувати дві сполуки з вираженою антибактеріальною активністю відносно штаму *S. aureus* ATCC 43300.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

SYNTHESIS AND STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME PYRAZOLE-SUBSTITUTED 7H-[1,2,4]TRIAZOLO[3,4-B][1,3,4]THIADIAZINES

I. I. Myrko¹, T. I. Chaban¹, V. V. Ogurtsov¹, V. S. Matiychuk²

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University¹

Ivan Franko National University of Lviv²

chabantaras@ukr.net

The aim of the work. To synthesize some new pyrazole-substituted 7H-[1,2,4]triazolo [3,4-b][1,3,4] thiadiazines and to evaluate the antimicrobial properties of the obtained compounds.

Materials and Methods. Organic synthesis, NMR spectroscopy, elemental analysis, pharmacological screening.

Results and Discussion. As a result of ethyl-(2Z)-chloro (phenylhydrazono) acetates interaction with acetylacetone were obtained ethyl 4-acetyl-5-methyl-1-phenyl-1H-pyrazole-3-carboxylates. These compounds were subjected to bromination, which allowed to obtain the target bromoketones. The ethyl 1-aryl-4-(bromoacetyl)-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates obtained at this stage were reacted with 4-amino-5-aryl (getaryl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thions followed by formation of 1,3,4-thiadiazole ring and preparation of the corresponding ethyl 1-aryl-4-{3-aryl (getaryl)-7H-[1,2,4] triazolo [3,4-b][1,3,4] thiadiazin-6-yl}-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates. The structures of the obtained compounds were confirmed by means of elemental analysis and NMR spectroscopy. In terms of the international project "The Community for Antimicrobial Drug Discovery" (CO-ADD), with the support of the Wellcome Trust (UK) and the University of Queensland (Australia), some synthesized compounds were screened for antimicrobial activity. Five bacterial strains were used as test microorganisms: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 and two strains of fungi: *Candida albicans* ATCC 90028 and *Cryptococcus neoformans* ATCC 208821. It was found that the studied compounds possess a variety of effects from almost complete absence to a pronounced antimicrobial effect.

Conclusions. Synthesis of 12 new ethyl 1-aryl-4-{3-aryl(getaryl)-7H-[1,2,4]triazolo [3,4-b][1,3,4] thiadiazin-6-yl}-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates was performed. These substances were obtained by reacting the corresponding ethyl 1-aryl-4-(bromoacetyl)-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates with 4-amino-5-aryl (getaryl)-2,4-dihydro-3H-1, 2,4-triazole-3-thions. Studies of the antimicrobial activity of the synthesized compounds demonstrated the potential for the discovery of antimicrobial agents among this class of compounds.

Key words: organic synthesis; NMR spectroscopy; 1-aryl-4-{3-aryl(getaryl)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazin-6-yl}-5-methyl-1H-pyrazole-3-carboxylates; antimicrobial activity.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПИРАЗОЛЗАМЕЩЕННЫХ 7H-[1,2,4]ТРИАЗОЛ[3,4-B][1,3,4]ТИАДИАЗИНОВ

И. И. Мырко¹, Т. И. Чабан¹, В. В. Огурцов¹, В. С. Матийчук²

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого¹

Львовский национальный университет имени Ивана Франка²

chabantaras@ukr.net

Цель работы. Осуществить синтез некоторых новых пиразолзамещенных 7H-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4] тиадиазинов и провести исследования антимикробных свойств синтезированных соединений.

Материалы и методы. Органический синтез, ¹H ЯМР-спектроскопия, элементный анализ, фармакологический скрининг.

Результаты и обсуждение. В результате взаимодействия этил(2Z)-хлора (фенилгидразо)ацетатов с ацетилацетоном было получено этил 4-ацетил-5-метил-1-фенил-1H-пиразол-3-карбоксилаты. Указанные соединения подвергли бромированию, что позволило получить целевые бромкетоны. Синтезированные на данной стадии этил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-пиразол-3-карбоксилаты было введено во взаимодействие с 4-амино-5-арил (гетарил)-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-тионами с последующим формированием 1,3,4-тиадиазольного цикла и получением соответствующих этил 1-арил-4{3-арил (гетарил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазин-6-ил}-5-метил-1H-пиразол-3-карбоксилатов. Структура синтезированных соединений подтверждена данными элементного анализа и ЯМР-спектроскопии. В рамках международного проекта «The Community for Antimicrobial Drug Discovery» (CO-ADD) при поддержке Wellcome Trust (Великобритания) и университета Квинсленда (Австралия) для синтезированных соединений осуществлен скрининг антимикробной активности. В качестве тестовых

мікроорганізмів використовували п'ять штамів бактерій: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 і двох штамів грибків: *Candida albicans* ATCC 90028 і *Cryptococcus neoformans* ATCC 208821. Установлено, що досліджувані сполуки проявляють різноманітне дію від практично повного його відсутності до виразного антимікробного ефекту.

Висновки. Здійснено синтез 12 нових етил 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксілатів. Вказані речовини отримані шляхом взаємодії відповідних етил 1-арил-4-(бромацетил)-5-метил-1H-піразол-3-карбоксілатів з 4-аміно-5-арил(гетарил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонами. Дослідження антимікробної активності синтезованих сполук демонструють потенціал пошуку антимікробних агентів серед вказаного класу сполук.

Ключові слова: органічний синтез; ЯМР-спектроскопія; 1-арил-4-{3-арил(гетарил)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)}-5-метил-1H-піразол-3-карбоксілати; антимікробна активність.

Список бібліографічних посилань

1. Antimicrobial drugs in fighting against antimicrobial resistance. G. Cheng, M. Dai, S. Ahmed et al. *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. P. 470–493.
2. A review on recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications. N. Kerru, L. Gummidi, S. Maddila et al. *Molecules*, 2020. Vol. 25. P. 1909–1951.
3. Smirnova N. G., Zavarzin I. V., Krayushkin M. M. Synthesis of condensed thiazoles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2006. Vol. 42. P. 144–165.
4. Recent advances in synthesis and biological activity evaluation of condensed thiazoloquinazolines: A review. Z. Chaban, S. Harkov, T. Chaban et al. *Pharmacia*. 2017. Vol. 64. P. 52–66.
5. Design, synthesis, and biological evaluation of novel 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин інгібіторів як антираковинних агентів. M. Ismail, S. Mohamady, N. Samir, K. Abouzid. *ACS Omega*. 2020. Vol. 5. P. 20170–20176.
6. Design and synthesis of benzimidazoles containing substituted oxadiazole, thiadiazole and triazolo-thiadiazines as a source of new anticancer agents. M. Rashid, A. Husain, R. Mishra et al. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019. Vol. 12. P. 3202–3224.
7. Synthesis and anti-proliferative assessment of triazolo-thiadiazepine and triazolo-thiadiazine scaffolds. A. Boraei, H. Ghabbour, M. Gomaa et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24. P. 4471–4480.
8. Design, synthesis and biological evaluation of flexible and rigid analogs of 4H-1,2,4-triazoles bearing 3,4,5-trimethoxyphenyl moiety as new antiproliferative agents. M. Ansari, M. Shokrzadeh, S. Karima et al. *Bioorganic Chemistry*. 2019. Vol. 93. P. 103300.
9. Synthesis, docking studies and biological activity of new benzimidazole-triazolothiadiazine derivatives as aromatase inhibitor. U. Çevik, B. Çavuşoğlu, B. Sağlık et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25. P. 1642–1654.
10. Antimicrobial evaluation of thiadiazino and thiazolo quinoxaline hybrids as potential DNA gyrase inhibitors; design, synthesis, characterization and morphological studies. Y. Ammar, A. Farag, A. Ali et al. *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 9. P. 103841.
11. Nayak S., Poojary B. Design, synthesis, in silico docking studies, and antibacterial activity of some thiadiazines and 1,2,4-triazole-3-thiones bearing pyrazole moiety. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 46. P. 97–106.
12. Elsayed H., Assy M., Mohamed A. An efficient synthesis and antimicrobial activity of N-bridged triazolo[3,4-*b*]thiadiazine and triazolo[3,4-*b*]thiadiazole derivatives under microwave irradiation. *Synthetic Communications*. 2020. Vol. 50. P. 997–1007.
13. Anti-inflammatory properties of some novel thiazolo[4,5-*b*]pyridin-2-ones. T. Chaban, V. Matyichuk, O. Komarytsya et al. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67. P. 121–127.
14. Synthesis and anticancer activity of 2-aryl-3-methylbenzofuro[3,2-*b*]pyrazolo[4,3-*e*]azepine-4,11(2*H*,10*H*)-dione and 2-aryl-3,7,9-trimethylpyrido[3',2':4,5]thieno[3,2-*b*]pyrazolo[4,3-*e*]azepine-4,11(2*H*,10*H*)-diones. T. Chaban, Y. Matyichuk, V. Horishny et al. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2020. Vol. 56. P. 813–818.
15. Open-access antimicrobial screening program (<https://www.co-add.org>).

References

1. Cheng G, Dai M, Ahmed S, Hao H, Wang X, Yuan Z. Antimicrobial drugs in fighting against antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:470-93.
2. Kerru N, Gummidi L, Maddila S, Gangu K, Jonnalagadda S. A Review on recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications. *Molecules*, 2020; 25: 1909-51.
3. Smirnova NG, Zavarzin IV, Krayushkin MM. Synthesis of condensed thiazoles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2006;42: 144-65.
4. Chaban Z, Harkov S, Chaban T, Klenina O, Ogurtsov V, Chaban I. Recent advances in synthesis and biological activity evaluation of condensed thiazoloquinazolines: A review. *Pharmacia*. 2017;64: 52-66.
5. Ismail M, Mohamady S, Samir N, Abouzid K. Design, synthesis, and biological evaluation of novel 7H-[1,2,4]

- triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine inhibitors as antitumor agents. *ACS Omega*. 2020;5: 20170-6.
6. Rashid M, Husain A, Mishra R, Karim S, Khan S, Ahmad M, Al-wabel N, Husain A, Aftab Sha A, Khan A. Design and synthesis of benzimidazoles containing substituted oxadiazole, thiadiazole and triazolo-thiadiazines as a source of new anticancer agents. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019;12: 3202-24.
 7. Boraei A, Ghabbour H, Gomaa M, El Ashry E, Barakat A. Synthesis and anti-proliferative assessment of triazolo-thiadiazepine and triazolo-thiadiazine scaffolds. *Molecules*. 2019;24: 4471-80.
 8. Ansari M, Shokrzadeh M, Karima S, Rajaei S, Hashemi S, Mirzaei H, Fallah M, Emami S. Design, synthesis and biological evaluation of flexible and rigid analogs of 4H-1,2,4-triazoles bearing 3,4,5-trimethoxyphenyl moiety as new antiproliferative agents. *Bioorganic Chemistry*. 2019;93: 103300.
 9. Çevik U, Çavuşoğlu B, Sağlık B, Osmaniye D, Levent S, Ilgin S, Özkay Y, Kaplancıklı Z. Synthesis, docking studies and biological activity of new benzimidazole-triazolothiadiazine derivatives as aromatase inhibitor. *Molecules*. 2020;25: 1642-54.
 10. Ammar Y, Farag A, Ali A, Hessein S, Askar A, Fayed E, Elsis D, Ragab A. Antimicrobial evaluation of thiazidiazino and thiazolo quinoxaline hybrids as potential DNA gyrase inhibitors; design, synthesis, characterization and morphological studies. *Bioorganic Chemistry*. 2020;9: 103841.
 11. Nayak S, Poojary B. Design, synthesis, in silico docking studies, and antibacterial activity of some thiadiazines and 1,2,4-triazole-3-thiones bearing pyrazole moiety. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2020;46: 97-106.
 12. Elsayed H, Assy M, Mohamed A. An efficient synthesis and antimicrobial activity of N-bridged triazolo[3,4-b]thiadiazine and triazolo[3,4-b]thiadiazole derivatives under microwave irradiation. *Synthetic Communications*. 2020;50: 997-1007.
 13. Chaban T, Matiychuk V, Komarytsya O, Myrko I, Chaban I, Ogurtsov V, Nektegaev I. Anti-inflammatory properties of some novel thiazolo[4,5-*b*]pyridin-2-ones. *Pharmacia*. 2020;67: 121-27.
 14. Chaban T, Matiychuk Y, Horishny V, Chaban I, Matiychuk V. Synthesis and anticancer activity of 2-aryl-3-methylbenzofuro[3,2-*b*]pyrazolo[4,3-*e*]azepine-4,11(2*H*,10*H*)-dione and 2-aryl-3,7,9-trimethylpyrido[3',2':4,5]thieno[3,2-*b*]pyrazolo[4,3-*e*]azepine-4,11(2*H*,10*H*)-diones. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2020;56: 813-8.
 15. Open-access antimicrobial screening program (<https://www.co-add.org>).

Відомості про авторів

Мирко І. І. – асистент кафедри загальної, біонеорганічної, фізикоїдної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна. E-mail: irynaoliinyk@gmail.com, ORCID 0000-0003-3979-543X.

Чабан Т. І. – канд. фармацевт. наук, доцент кафедри загальної, біонеорганічної, фізикоїдної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна. E-mail: chabantaras@ukr.net, ORCID 000-0003-0618-275X.

Огурцов В. В. – канд. фармацевт. наук, доцент кафедри загальної, біонеорганічної, фізикоїдної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна. E-mail: ogurtsov-v@ukr.net, ORCID 0000-0001-9254-8337.

Матійчук В. С. – д. хім. наук, професор кафедри органічної хімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна. E-mail: matichuk@mail.lviv.ua, ORCID 0000-0001-8077-2139.

Information about the authors

Myrko I. I. – assistant of the General, Bioinorganic, Physical, Colloidal Chemistry Department, Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. E-mail: irynaoliinyk@gmail.com, ORCID 0000-0003-3979-543X.

Chaban T. I. – PhD (Pharmacy), Associate Professor of the General, Bioinorganic, Physical, Colloidal Chemistry Department, Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. E-mail: chabantaras@ukr.net, ORCID 0000-0003-0618-275X.

Ogurtsov V. V. – PhD (Pharmacy), Associate Professor of the General, Bioinorganic, Physical, Colloidal Chemistry Department, Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. E-mail: ogurtsov-v@ukr.net, ORCID 0000-0001-9254-8337.

Matiychuk V. S. – DSc (Chemistry), Professor of the Organic Chemistry Department, Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine. E-mail: matichuk@mail.lviv.ua, ORCID 0000-0001-8077-2139.